



УДК 543. 25

## О взаимодействии фосфорномолибденовой кислоты с $\alpha$ -аминокислотами и возможности применения продуктов реакции в ионометрии



Р. К. Чернова, О. В. Варыгина, А. М. Захаревич

Чернова Римма Кузьминична, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, chernov-ia@yandex.ru

Варыгина Ольга Владимировна, инженер кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, varigini@mail.ru

Захаревич Андрей Михайлович, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией диагностики наноматериалов и структур «ОНИ наноструктур и биосистем», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, lab-15@mail.ru

Рассмотрены условия синтеза ионных ассоциатов фосфорномолибдат-ионов с протонированной формой гидрохлорида лизина. Показано, что фосфорномолибденовая кислота (ФМК) подвергается процессам гидролиза с образованием следующих продуктов:  $\text{HPO}_4^{2-} + \text{Mo}_12\text{O}_{42}^{3-} + 11\text{H}_2\text{O}$ . При pH 2 в водных растворах ФМК устойчива, существует в виде аниона  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{42}]^{3-}$  и взаимодействует с протонированной формой лизина с образованием ассоциата  $3[\text{HLys}]^+[\text{ФМК}]^{3-}$ . Молярное соотношение лизин : ФМК = 3 : 1 доказано методом потенциометрического титрования, указанные молярные соотношения подтверждены данными элементного анализа. ИК-спектроскопическое исследование полученного ассоциата показало наличие фрагмента  $-\text{Mo}-\text{O}$  ( $\nu=1900-500\text{ см}^{-1}$ ) и группы  $-\text{NH}_3^+$  ( $\nu=3500-3650\text{ см}^{-1}$ ), что свидетельствует об ионном характере связи между анионом ФМК и катионом лизина. Пластифицированную мембрану получали путем добавления к навеске 0,050 г высушенного ассоциата 8 мл циклогексанона и 0,4316 г дибутилфталата. Нагревали до  $60^\circ\text{C}$  и добавляли при перемешивании небольшими порциями 0,2522 г поливинилхлорид. После растворения поливинилхлорида готовую прозрачную субстанцию помещали в чашку Петри ( $d=61\text{ мм}$ ) и высушивали на воздухе в течение трех суток. Затем к тщательно отшлифованному торцу графитового стержня прикрепляли полученную ион-селективную мембрану, диаметр которой соответствовал диаметру трубки (6–8 мм). После высушивания перед работой электрод кондиционировали в течение 24 часов в  $10^{-3}\text{ М}$  растворе лизина. Электродная функция линейна в интервале концентраций  $10^{-2}-10^{-5}\text{ М}$ . Впервые исследована морфология фосфорномолибденовой кислоты и ее ассоциата с лизином.

**Ключевые слова:** ион-селективные электроды,  $\alpha$ -аминокислоты, ионный ассоциат, фосфорномолибденовая кислота.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>

Определение отдельных  $\alpha$ -аминокислот (в частности, лизина) в их смешанных растворах и сложных объектах в настоящее время в основном проводят хроматографическими, спектроскопическими и электрофоретическими методами, которые непригодны для скрининговых испытаний продукции вследствие их дороговизны и трудоемкости. Этим недостатком лишена ионометрия, основанная на применении соответствующих сенсоров. Обзор таких сенсоров на  $\alpha$ -аминокислоты представлен в работе [1]. Из обзора следует, что далеко не для всех  $\alpha$ -аминокислот получены сенсоры, и в частности, не описаны сенсоры на основе ионных ассоциатов (преимущественно труднорастворимых), наиболее простой и распространенной формы ионофоров, часто применяемой в ионометрии многих органических соединений [2–5]. Для этого имеются объективные основания: фактически не известны труднорастворимые соединения для сильногидратированных  $\alpha$ -аминокислот. Кроме того, ситуация с  $\alpha$ -аминокислотами осложняется тем, что они, в зависимости от pH и других факторов, могут существовать в растворе в формах катионов, анионов, цвиттерионов (рис. 1). Типичная для основных  $\alpha$ -аминокислот диаграмма распределения ионизированных форм в зависимости от pH на примере лизина представлена на рис. 1.

Как видно из рис. 1, в катионной протонированной форме лизин существует при pH 2 и в более кислых средах.

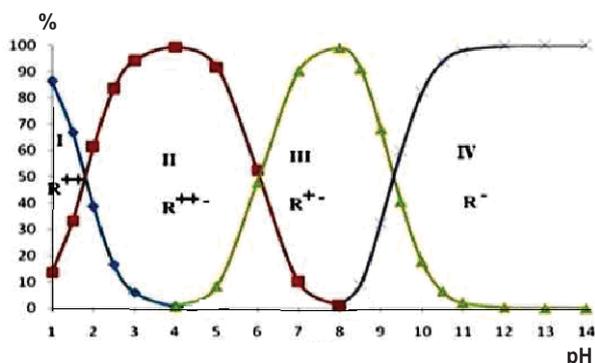
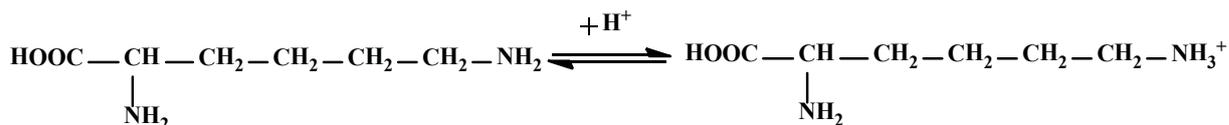


Рис. 1. Типичная для основных  $\alpha$ -аминокислот диаграмма распределения ионизированных форм на примере лизина в зависимости от pH

Fig. 1. Typical for basic  $\alpha$ -amino acids distribution diagram of ionized forms on the example of lysine depending on pH



Нами для исследования была выбрана мало изученная в ионометрии как лиганд-противо-ион фосфорномолибденовая кислота (ФМК), содержащая сложный гидрофобный анион – фосфоромолибдат. ФМК относится к гетерополисо-единениям общей формулы  $[\text{X}_x\text{M}_m\text{O}_y]^{n-}$ , причем  $x \ll m$ . М-атом металла в самой высокой степени окисления в нашем случае – молибден; гетеро-атомом X является атом фосфора. Согласно рентгенометрическим данным, постоянная решетки ФМК составляет  $23,1 \text{ \AA}$ , в элементарной ячейке содержится 8 молекул. ФМК растворима в воде и кристаллизуется в виде хорошо образованных золотисто-желтых октаэдров с разным количеством кристаллизационной воды. Так, описаны гидраты, содержащие 2, 14, 16, 22, 27, 28, 29, 30 и до 50 молекул кристаллизационной воды. Большая часть этой воды – цеолитная по своей природе, и состав гидрата может значительно изменяться.

Особенно следует подчеркнуть, что согласно [2], ФМК подвергается в водных растворах гидролизу, например аналогично схожему по свойствам поливольфрамату:



Отмечается, что значения pH, при которых такие реакции происходят быстро и достаточно полно, имеют большой диапазон (pH 1–14) в зависимости от вступающего в реакцию полианиона. Многие полианионы являются сильными окислителями и подвергаются многократному

обратимому одно- и двухэлектронному восстановлению, образуя интенсивно окрашенные смешанно-валентные соединения (гетерополи-сини). Гетерополианионы имеют сложную и до настоящего времени однозначно не установленную структуру, хотя для изучения структуры этих соединений в растворах применялись такие разнообразные методы, как физико-химический анализ равновесий, полярография и вольтамперометрия, солевая криоскопия, диффузия и диализ, ультрацентрифугирование, рентгеноструктурный анализ, электронная и колебательная спектроскопия, ядерный магнитный резонанс, электронный парамагнитный резонанс [2].

В основе образования структур гетерополианионов лежат принципы электростатики и соотношения радиусов, которые известны для протяженных ионных решеток. Поэтому часто описывают эти структуры в виде совокупности MO<sub>n</sub>-полиэдров с металлом в центре, которые соединяются вершинами, ребрами и реже – гранями. Однако атом металла не лежит в центре своего полиэдра из атомов кислорода, а сильно смещен к внешней части структуры полианиона, т. е. к вершине или ребру своего собственного полиэдра. Известно несколько типов таких структур. Одна из них, наиболее распространенная, в качестве примера приведена на рис. 2.

Было проведено термогравиметрическое исследование препарата ФМК, маркированного как  $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \times \text{H}_2\text{O}$ . Термогравиметрическое исследование, проведенное нами, под-

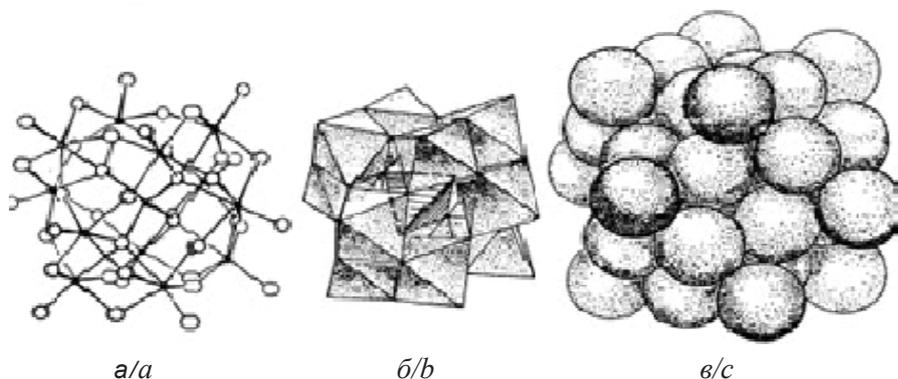


Рис. 2. Структура анионов (по Кеггину): а –  $[\text{XMo}_{12}\text{O}_{40}]^{n-}$ ; б – изображенная в виде связей М-О; в – полиэдрическая модель и модель плотной упаковки

Fig. 2. The structure of the anions (Keggin): а –  $[\text{XMo}_{12}\text{O}_{40}]^{n-}$ ; б – is depicted in the form of bonds M-O; с – polyhedral model and the model of close packing



твердило наличие воды, по разному связанной в соединении (рис. 3). Так, при 110–120° С удаляется вода слабо связанная, при 160–170° С удаляется координационно связанная вода и образуется безводный продукт, сохраняющий все свойства ФМК. При 450° С остаются устойчивые оксиды  $P_2O_5$  и  $MoO_3$ . Из анализа термограммы также следует, что препарат не содержит зольного остатка. Содержание воды в препарате составило 50%.

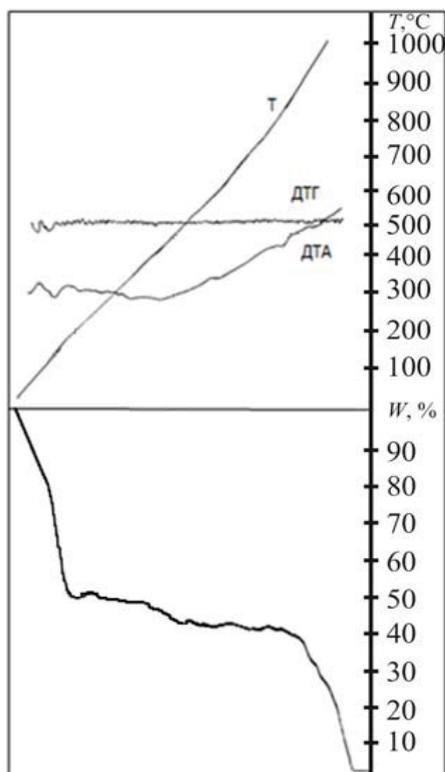


Рис. 3. Термогравиметрическое исследование фосфорномолибденовой кислоты  
Fig. 3. Thermogravimetric study of the molybdophosphoric acid

Согласно [3], брутто-формулу ФМК обозначали как  $H_7[P(Mo_2O_7)_6] \times H_2O$ . Ряд авторов изображал брутто-формулу ФМК как  $H_3H_4[P(Mo_2O_7)_6] \times H_2O$ , подчеркивая, что семь атомов водорода в брутто-формуле неравноценны и первые 3 атома водорода легко диссоциируют в водном растворе, в результате чего рН водного раствора ФМК имеет кислую реакцию (рН = 2,24), причем отщепляются все 3 протона одновременно с образованием трехзарядного аниона. Следующие 4 атома водорода не влияют на кислотность и по своей природе сходны с атомами водорода группы ОН органических кислот

[3]. Как уже указывалось, значение рН водного раствора ФМК составляет 2,24, а это значит, что в такой среде основные  $\alpha$ -аминокислоты протонированы по атому азота и являются катионами. Нами исследовалась возможность образования твердой фазы в ряду всех 20  $\alpha$ -аминокислот при разных значениях рН. Было установлено, что из всех исследованных аминокислот только 4 (Arg, His, Lys, Trp) образуют труднорастворимые соединения с ФМК, разные при разных рН. Было установлено, что в щелочной среде (рН 7) образуются студнеобразные осадки, не являющиеся ионофорами, и лишь при рН 2 образуется обильный мелкокристаллический желтый осадок, проявляющий свойства ионофора. Методом потенциметрического титрования лизина раствором ФМК (рис. 4) было показано, что молекулярные соотношения компонентов в ассоциате составляют  $[Lys]H^+ : ФМК^{3-} = 3 : 1$ , поэтому образующийся труднорастворимый ассоциат можно представить общей формулой:  $3[H Lys]^+[ФМК]^{3-}$ .

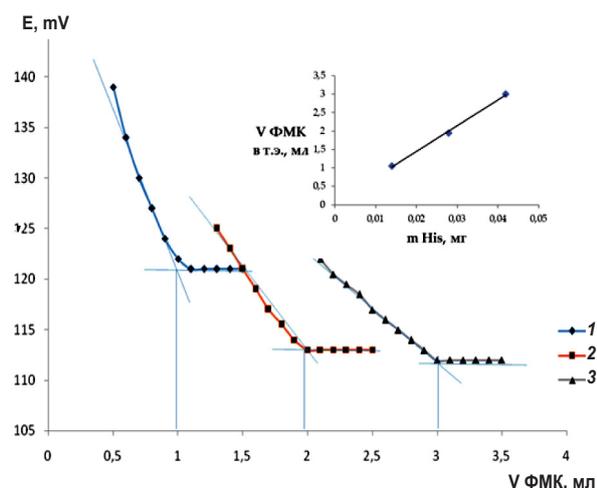


Рис. 4. Потенциметрическое титрование лизина  $C = 0,09$  М фосфорномолибденовой кислотой  $C = 0,03$  М : 1 – объем лизина для титрования 1 мл; 2 – объем лизина для титрования 2 мл; 3 – объем лизина для титрования 3 мл  
Fig. 4. Potentiometric titration of lysine with  $= 0,09$  M phosphoric molybdenum acid with  $= 0,03$  M, 1 – volume of lysine for titration of 1 ml; 2 – volume of lysine for titration of 2 ml; 3 – volume of lysine for titration of 3 ml

Нами проведены ИК-спектроскопические исследования полученного ассоциата (рис. 5).

Как следует из рис. 5, ИК-спектр ассоциата содержит характерные фрагменты как ФМК (связь  $-Mo-O$  с характеристической частотой  $\nu = 1090-500$   $cm^{-1}$ ), так и лизина (характерная для группы  $-NH_3^+$  частота  $\nu = 3300-3650$   $cm^{-1}$ ).

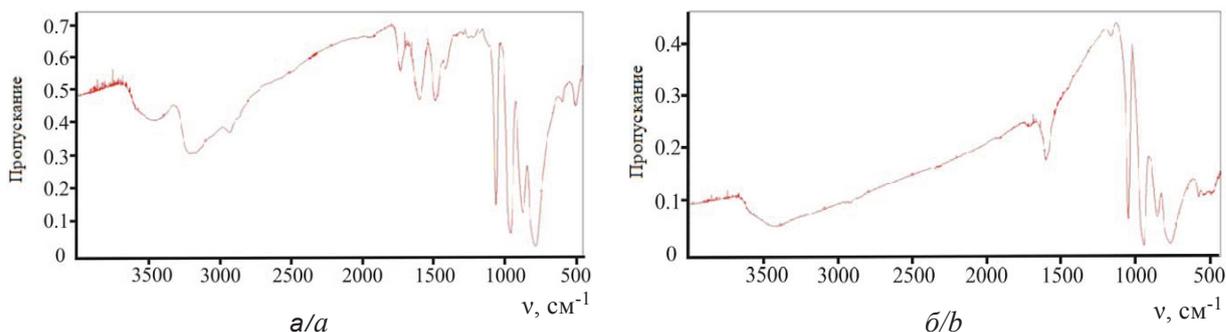


Рис. 5. ИК-спектры: *a* – ассоциата фосфорномолибденовая кислота – лизин, *b* – фосфорномолибденовой кислоты  
 Fig. 5. IR-spectrums: *a* – associate of phosphorus-molybdenum acid – lysine, *b* – phosphoric-molybdenum acid

Данные свидетельствуют о том, что связь в ассоциате носит ионный характер. Как уже указывалось, твердая фаза была получена со всеми основными аминокислотами при разных значениях pH, однако как ионофор может работать только ассоциат, полученный при pH 2, так как при более высоких значениях pH начинают преобладать соединения другого состава с продуктами гидролиза ФМК (осадок имеет белесый оттенок), который свойствами ионофора не обладает. Пленочные селективные мембраны с поливинилхлоридной матрицей на основе ассоциата лизина с ФМК изготавливали по известной методике: к навеске 0,0050 г высушенного ассоциата добавляли 8 мл циклогексанона и 0,4316 г дибутилфталата, нагревали до 60°С и при перемешивании небольшими

порциями добавляли 0,2522 г поливинилхлорида (ПВХ). После полного растворения ПВХ готовую прозрачную субстанцию помещали в чашку Петри ( $d = 61$  мм) и оставляли высыхать на воздухе. Твердоконтактный сенсор получали методом «наклеенной пленки». Для этого к тщательно отшлифованному торцу графитового стержня приклеивали ионоселективный мембранный диск, полученный по вышеизложенной методике, диаметр которого соответствовал диаметру трубки (6–8 мм). После высыхания электроды перед работой кондиционировали в течение 24 ч в  $1 \times 10^{-3}$  М раствора лизина (таблица). Электродная функция ион-селективного электрода на лизин линейна в интервале концентраций  $10^{-5}$ – $10^{-1}$  М (рис. 6).

**Основные электрохимические характеристики ион-селективного электрода на лизин**  
**The Main Electrochemical Characteristics of the Ion-Selective Electrode for Lysine**

<i>T</i> устанав. стационарного потенциала, мин / <i>T</i> setting. the steady state Narn potential La, min	Рабочий диапазон <i>C</i> , М / Operating range <i>C</i> , М	<i>S</i> , мВ/рС / <i>S</i> , mV/pS	Время отклика мин / Response time, min	Стабильность, рН, t°С / Stability, рН, t°С	Дрейф потенциала, мВ/сут / Potential drift La, mV/day	Угловой коэф. наклона прямой / Corner coef. the slope of the straight	Срок службы, месяцы / Service life, months
3,0	$1 \times 10^{-5}$ – $1 \times 10^{-1}$	$19,1 \pm 0,2$	3,0	5–8, 15–30°	$2 \pm 1$	$\approx 20$	3,5

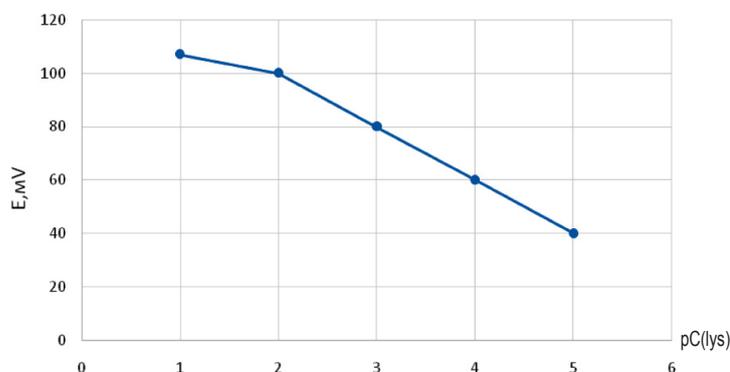


Рис. 6. Электродная функция ион-селективного электрода на лизин  
 Fig. 6. Electrode function of ion-selective electrode on lysine



Методом сканирующей электронной микроскопии проведен анализ ассоциата  $[Lys]H^+ : ФМК^{3-} = 3 : 1$ . Получены микрофотографии поверхности с помощью автоэмиссионного сканирующего электронного микроскопа MIRA 2 LMU производства фирмы Tescan, оснащенного системой энергодисперсионного микроанализа INCA

Energy 350 (Чехия). Разрешающая способность микроскопа – 1 нм, чувствительность детектора INCA Energy – 133 эВ/10 мм<sup>2</sup>. Определено процентное содержание молибдена, фосфора и кислорода. Расхождение практического содержания с теоретическим значением Mo не превышает 3%, P – 4%, O – 1% (рис. 7).

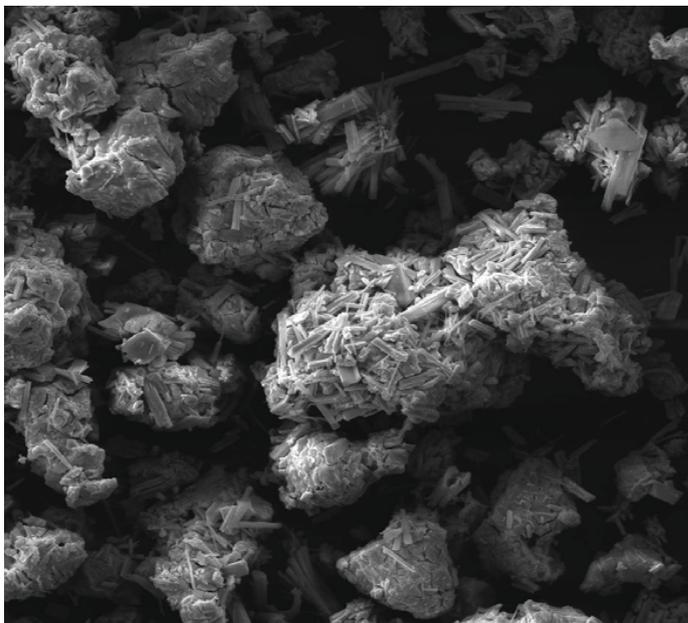


Рис. 7. Микроструктура ассоциата  $[Lys] H^+ : ФМК^{3-} = 3 : 1$  (сканирующая электронная микроскопия, увеличение 200  $\mu m$ )  
Fig. 7. Microstructure of associate  $[Lys] H^+ : PhMA^{3-} = 3 : 1$  (scanning electron microscopy, 200  $\mu m$  magnification)

### Список литературы

1. Варыгина О. В., Селифонова Е. И., Чернова Р. К. Сенсорные системы для определения  $\alpha$ -аминокислот (обзор) // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 261–268. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-261-267
2. Бобрешова О. В. Новые потенциометрические сенсоры для определения аминокислот, витаминов и лекарственных веществ в водных растворах // Аналитическая химия – новые методы и возможности : материалы съезда аналитиков России (Москва, 26–30 апреля 2010 г.). М. : Изд-во ГЕОХИ РАН, 2010. С. 45–46.
3. Агунова М. В., Паршина А. В., Бобрешова О. В. Потенциометрическое определение лизина моногидрохлорида в индивидуальных и смешанных водных растворах // Аналитическая химия – новые методы и возможности : материалы съезда аналитиков России, 26–30 апреля 2010 г. М. : Изд-во ГЕОХИ РАН, 2010. С. 22.
4. Пат. 87260 Рос. Федерация. Потенциометрический измерительный комплекс для определения органических электролитов в водных растворах, содержащих хлориды калия и натрия / О. В. Бобрешова, А. В. Паршина, С. В. Тимофеев, К. А. Полуместная. № 2009115481; заявл. 23.04.2009; опубл. 27.09.2009, Бюл. № 27.
5. Яблов А. Н., Калач А. В., Жиброва Ю. А., Селемнев В. Ф., Дьяконова О. В. Определение глицина в водных растворах пьезосенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 1. С. 93–95.

### Образец для цитирования:

Чернова Р. К., Варыгина О. В., Захаревич А. М. О взаимодействии фосфорномолибденовой кислоты с  $\alpha$ -аминокислотами и возможности применения продуктов реакции в ионометрии // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 268–273. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>



## On the Interaction of the Phosphoric Molybdenum Acid with the $\alpha$ -Amino Acids and Possible Applications of the Reaction Products in Ionometry

R. K. Chernova, O. V. Varygina, A. M. Zakharevich

Rimma K. Chernova, <https://orcid.org/0000-0002-1693-2836>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [chernov-ia@yandex.ru](mailto:chernov-ia@yandex.ru)

Olga V. Varygina, <https://orcid.org/0000-0003-3640-5299>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [varigini@mail.ru](mailto:varigini@mail.ru)

Andrey M. Zakharevich, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [lab-15@mail.ru](mailto:lab-15@mail.ru)

The conditions of synthesis of ion associates of phosphorus-molybdenum ions with protonated form of lysine hydrochloride have been considered. It has been shown that the phosphoric molybdenum acid undergoes hydrolysis with the formation of the following products:  $\text{HPO}_4^{2-} + \text{Mo}_{12}\text{O}_{42}^{6-} + 11\text{H}_2\text{O}$ . At pH 2 in aqueous solutions, the PhMA is stable, exists as anion  $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{42}]^{3-}$  and interacts with protonated form of lysine with the formation of associates  $3[\text{HLys}]^+[\text{FMC}]^{3-}$ . The molar ratio of lysine: PhMA = 3 : 1 was proved by potentiometric titration, these molar ratios were confirmed by the data of elemental analysis, IR spectroscopic study of the obtained associate showed the presence of a fragment  $-\text{Mo}-\text{O}$  ( $\nu = 1900-500 \text{ cm}^{-1}$ ) and a group  $-\text{NH}_3^+$  ( $\nu = 3500-3650 \text{ cm}^{-1}$ ), which indicates the ionic nature of the relationship between the PhMA anion and the lysine cation. The plasticized membrane was obtained by adding 0.050 g of dried associate 8 ml of cyclohexanone and 0.4316 g of dibutyl phthalate to the sample. Heated to 60° C and added with stirring in small portions 0.2522 g polyvinyl chloride. After dissolution of polyvinyl chloride, the finished transparent substance was placed into a Petri dish ( $d = 61 \text{ mm}$ ) and dried in the air for three days. Then, the ion-selective membrane was attached to the carefully polished end of the graphite rod, the diameter of which corresponded to the diameter of the tube (6–8 mm). After drying before work, the electrode was conditioned for 24 hours in a  $10^{-3} \text{ M}$  lysine solution. The electrode function is linear in the concentration range of  $10^{-2}-10^{-5} \text{ M}$ . The morphology of phosphoric molybdenum acid and its associate with lysine was studied for the first time.

**Keywords:** ion-selective electrodes,  $\alpha$ -amino acids, ion associate, phosphoric molybdenum acid.

## References

1. Varygina O. V., Selifonova E. I., Chernova R. K. Sensor Systems for Determining  $\alpha$ -Amino Acids. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 261–267 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-261-267
2. Bobreshova O. V. Novye potenciometricheskie sensory dlya opredeleniya aminokislot, vitaminov i lekarstvennykh veshchestv v vodnykh rastvorakh [New potentiometric sensors for the determination of amino acids, vitamins and drugs in aqueous solutions]. In: *Analiticheskaya himiya – novye metody i vozmozhnosti: materialy s"ezda analitikov Rossii (Moscow, 26–30 aprelya 2010 g.)* [Analytical chemistry – new methods and possibilities: Materials of the Congress of analysts of Russia (Moscow, April 26–30, 2010)]. Moscow, Izd-vo GEOHI RAN, 2010, pp. 45–46 (in Russian).
3. Agupova M. V., Parshina A. V., Bobreshova O. V. Potenciometricheskoe opredelenie lizina monogidrohlorida v individual'nykh i smeshannykh vodnykh rastvorakh [Potentiometric determination of lysine monohydrochloride in individual and mixed aqueous solutions]. *Analiticheskaya himiya – novye metody i vozmozhnosti: materialy s"ezda analitikov Rossii (Moscow, 26–30 aprelya 2010 g.)* [Analytical chemistry – new methods and opportunities: proceedings of the Congress of analysts of Russia, 26-30 April 2010]. Moscow, Izd-vo GEOHI RAN, 2010, p. 22 (in Russian).
4. Pat. 87260 RF. *Potenciometricheskii izmeritel'nyy kompleks dlya opredeleniya organicheskikh elektrolitov v vodnykh rastvorakh, sodержaschikh hloridy kaliya i natriya* [Potentiometric measuring system for the determination of organic electrolytes in aqueous solutions containing chlorides of potassium and sodium]. O. V. Bobreshova, A. V. Parshina, S. V. Timofeev, K. A. Polumestnaya. № 2009115481; заявл. 23.04.2009; opubl. 27.09.2009; byul. № 27 [Pat. 87260 Russia. No. 2009115481; appl. 23.04.2009; publ. 27.09.2009; Byul. No. 27] (in Russian).
5. Zyablov A. N., Kalach A. V., Zhibrova Yu. A., Selemenev V. F., D'yakonova O. V. Determination of glycine in aqueous solutions by piezosensors, a modified polymer with a molecular imprint. *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, vol. 65, no. 1, pp. 93–95 (in Russian).

## Cite this article as:

Chernova R. K., Varygina O. V., Zakharevich A. M. On the Interaction of the Phosphoric Molybdenum Acid with the  $\alpha$ -Amino Acids and Possible Applications of the Reaction Products in Ionometry. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 268–273 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>